Über den Einfluß von tiefer Temperatur, Atmungsgiften und Sauerstoffentzug auf die einzelnen Phasen im Zyklus der endogenen Tagesperiodik von Phaseolus

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Siegfried Kurras

aus Naumburg/Saale

1965

8163

ÜBER DEN EINFLUSS VON TIEFER TEMPERATUR, ATMUNGSGIFTEN UND SAUERSTOFFENTZUG AUF DIE EINZELNEN PHASEN IM ZYKLUS DER ENDOGENEN TAGESPERIODIK VON PHASEOLUS

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Siegfried Kurras
aus Naumburg/Saale

1965

Tag der mündlichen Prüfung:	18.2.1965
Dekan:	Professor Dr. P. Roquette
1. Berichterstatter:	Professor Dr. E. Bünning
2. Berichterstatter:	Professor Dr. H. Metzner

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. E. B ü n n i n g ,
danke ich herzlich dafür, daß er es mir möglich machte, diese
Arbeit durchzuführen. Durch sein reges Interesse wurden meine
Untersuchungen sehr gefördert.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	2
Ergebnisse	4
I. Versuche mit tiefer Temperatur	4
II. Versuche mit Atmungsgiften	7
1. Die Wirkung von KCN	8
2. Die Wirkung von 2.4 DNP	9
3. Das Verhalten der Kontrollpflanzen unter der Einwirkung des Lichtes	10
III. Versuche mit Verdrängung des Sauerstoffs	12
1. Die Wirkung der Verdrängung durch Stickstoff	13
2. Die Wirkung der Verdrängung durch Kohlendioxyd	14
Diskussion	15
Zusammenfassung	18
Abbildungsverzeichnis	21
Literaturverzeichnis	40

E I N L E I T U N G

Eine sehr bemerkenswerte Eigenschaft der endogenen Tagesrhythmik ist ihre weitgehende Temperaturunabhängigkeit. Sie scheint im Mechanismus der physiologischen Uhr selbst begründet zu sein und ermöglicht es den Organismen, tagesperiodische Oszillationen zur Chronometrie zu verwenden. Daß diese Unabhängigkeit jedoch nur eine relative sein kann, geht schon aus der Zeitgeberfunktion wechselnder Temperaturen hervor. Durch tiefe Temperaturen, bei Phaseolus multiflorus etwa ab +5°C, wird die endogene Rhythmik sehr stark beeinflußt (BÜNNING u. TAZAWA 1957, BÜNNING 1963, WAGNER 1963). Dabei spielt es eine große Rolle, zu welcher Zeit im Zyklus die tiefe Temperatur geboten wird. Untersuchungen von WAGNER ergaben eine stark asymmetrisch verlaufende Empfindlichkeitskurve bei kurzfristiger Kühlung auf 4.5°C. Die Versuche WAGNERS fortsetzend sollte in der vorliegenden Arbeit die Veränderung der Rhythmik von Phaseolus durch eine mehrstündige, fast den Nullpunkt erreichende Temperaturbehandlung festgestellt werden.

An die Kälteversuche schlossen sich solche mit Atmungsgiften an. Schon früher, besonders aber in den letzten Jahren, bemühte man sich auf der Suche nach Ursachen der endogenen Rhythmik, den Gang der Uhr chemisch zu beeinflussen. Über Phaseolus multiflorus liegen Arbeiten vor von BÜNNING 1956 und 1957, KELLER 1960, BÜNNING u. BALTES 1962 und 1963, BALTES 1964.

Ferner sollte geprüft werden, ob bei Verdrängung der Luft mittels Stickstoff und Kohlendioxyd zu Gift- und Temperaturwirkung analoge Beeinflussungsmöglichkeiten aufgefunden werden können. Experimente auf diesem Gebiet, ebenfalls an Phaseolus, sind 1960 in mehr qualitativer Weise von KELLER durchgeführt worden.

In dieser Arbeit werden erstmals die Einwirkungen von Atmungsgiften und Sauerstoffarmut auf die endogenen tages-

periodisch verlaufenden Blattbewegungen von Phaseolus anhand von Empfindlichkeitskurven geschildert, wobei bis zu sechs Schwingungsperioden Berücksichtigung finden. Sie liefern den Beweis, daß durch die genannten Agenzien nicht nur die an die physiologische Uhr gekoppelten Vorgänge beeinflußt werden können, sondern diese Uhr selbst.

M A T E R I A L U N D M E T H O D I K

V e r s u c h s o b j e k t u n d V o r b e h a n d l u n g

Als Versuchsobjekt diente Phaseolus multiflorus. Die Anzucht der Bohnen erfolgte im Gewächshaus bei natürlichem Licht-Dunkel-Wechsel (LDW). Im Alter von 18-20 Tagen wurden die Pflanzen in eine Klimakammer übertragen und einem 4-5tägigen LDW ausgesetzt. Die Lichtzeit dauerte immer 18 Stunden. Durch diese Maßnahme sollte eine möglichst genaue Synchronisation der Blattbewegungen herbeigeführt werden. Einstündige Abweichungen vom Mittelwert der Blattsenkungsmaxima sind trotzdem nicht selten, selbst wenn man 6-7 Tage lang synchronisiert. Im Winter erreichten die Blätter ihre tiefste Stellung um 24 Uhr, im Sommer erst gegen 3 Uhr morgens. Darin äußern sich die jahreszeitlich verschiedenen Lichtverhältnisse während der Aufzucht im Gewächshaus.

V e r s u c h s b e d i n g u n g e n

Nach Ablauf der Synchronisationszeit wurden bei den Versuchen mit tiefer Temperatur 6-8 eingetopfte Pflanzen in eine Kühltruhe gestellt und bis auf $+2^{\circ}C$ abgekühlt. Die Temperaturabweichungen betrugen $\pm 1^{\circ}$. Gekühlt wurde 4 Std bei Beleuchtung. Es dauerte meist 1-1.5 Std, ehe die gewünschte Versuchstemperatur von $+2^{\circ}$ vorlag.

Bei den Giftversuchen wurden die Pflanzen ca. 10 cm unter dem Hauptgelenk abgeschnitten und 4 Std lang bei $20^{\circ}C$ in die Giftlösung gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit kamen sie in

Aqua dest.. Das Gift wanderte mit dem Transpirationsstrom in die Blätter und deren Gelenke. Um anaerobe Bedingungen zu schaffen, wurden die ebenfalls abgeschnittenen Pflanzen in Aqua dest. unter eine luftdicht schließende Glasglocke gestellt. Aus einer Stickstoff- bzw. Kohlendioxydflasche strömte Gas in die Glocke und verdrängte die Luft. Die Begasungszeit dauerte wie alle anderen Einwirkungszeiten genau 4 Std.

Sämtliche exogenen Einflüsse fanden gleich in der ersten zur Registrierung kommenden Periode statt.

Als Lichtquellen dienten in allen Fällen 40-Watt-Leuchtstoffröhren OSRAM HNW. Die Licht-Dunkel-Kammer hatte 7500-8000 Lux, Kühltruhe, Begasungsanlage und alle Registrierkammern jeweils 400-600 Lux.

Die Temperatur betrug während des Registrierens $21^{\circ}C \pm 1$, während der Vorbehandlung $20^{\circ} \pm 1$. Die Luftfeuchtigkeit lag zwischen 55 und 65%.

R e g i s t r i e r u n g

Die Pflanzen wurden in üblicher Weise bandagiert und die Bewegung der Primärblätter durch Hebelübertragung auf dem berußten Papier einer rotierenden Trommel aufgezeichnet.

A u s w e r t u n g

Bei der Auswertung der Blattbewegungskurven wurden alle Zahlenwerte auf den Beginn der Kälte-, Gift- oder Gaseinwirkung bezogen und die zeitlichen Abstände der aufeinanderfolgenden Senkungsmaxima (SM) während 4-7 Tagen im Dauerlicht bestimmt. Alle in den Abbildungen angegebenen Werte sind Mittelwerte, deren mittlerer quadratischer Fehler nach der üblichen Formel errechnet wurde. Um die Phasenverschiebungen festzustellen, sind von den Mittelwerten der Kontrollen die Mittelwerte der durch Kälte, Gift oder Gas beeinflußten Versuchspflanzen subtrahiert worden.

E R G E B N I S S E

I. VERSUCHE MIT TIEFER TEMPERATUR

Um ein genaueres Bild der Auswirkung tiefer Temperatur auf die tagesperiodischen Schwingungen von Phaseolus zu bekommen, wurde der ganze Zyklus in 10 Abschnitte mit ebensoviel Versuchsserien eingeteilt. Die 4stündige Kühlung begann 1, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 17, 19 oder 21 Stunden nach dem letzten SM der Primärblätter im LDW (Abb. 1). In der Regel wurden die Kühlversuche 2-3mal wiederholt. Gleichzeitig mit Kühlungsanfang begann die Registrierung der Kontrollpflanzen.

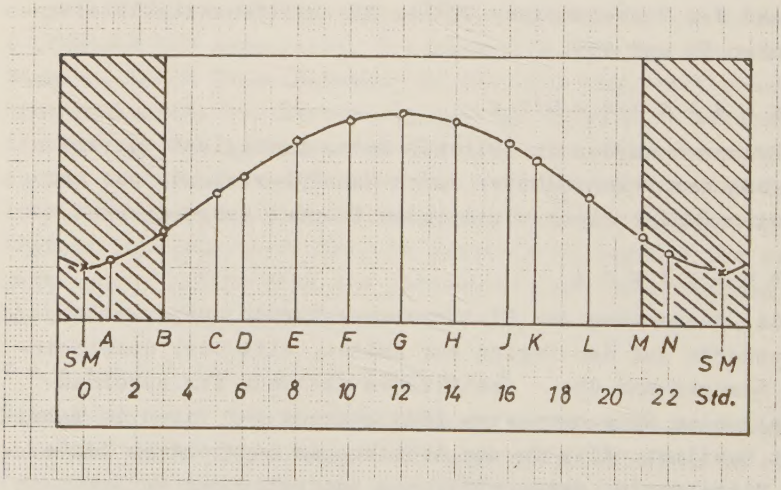


Abb. 1: Angegeben sind die Übertragungszeitpunkte (A-N) der Pflanzen aus dem Licht-Dunkel-Wechsel (Dunkelzeit=schraffiert) in Dauerlicht. An die Übertragung unmittelbar anschließend beginnt die 4stündige Einwirkungszeit der verschiedenen Agenzien wie Temperatur, Atmungsgift und Sauerstoffverdrängung.
Kurve: Verlauf der Blattschwingung zwischen zwei Senkungsmaxima (SM)
Abszisse: Stunden nach dem SM.

Die Lage des 1. und 3. Senkungsmaximums ab Kältebeginn

Niedere Temperatur von +2°C und 4stündiger Dauer wirkt verschieden auf das Eintreten der SM, je nachdem, an welcher Stelle im Zyklus die Einwirkung stattfindet. Dieses Ergebnis entspricht ganz den Beobachtungen WAGNERS 1963. In unserem Falle treten über den ganzen Zyklus hinweg Phasenverzögerungen auf, die aber in charakteristischer Weise variieren. In Abb. 2 sind die Phasenverschiebungen am 1. SM nach Kältebeginn dargestellt. Die größten Werte übertreffen die Kühldauer um das 5-6fache. Sie werden dann erreicht, wenn man die Pflanzen 3-4 Std vor ihrem SM der Kältebehandlung aussetzt. Den gesamten Kurvenverlauf kann man in drei Abschnitte mit Übergangszonen zerlegen.

1. Von der 1. bis zur 6. oder 7. Std. Die Phasenverzögerungen sind kleiner als die Dauer der Kühlung.
2. Von der 6. bzw. 7. bis zur 18. oder 19. Std. Die Phasenverzögerungen erreichen die Dauer der Kühlung. Die Uhr wird sistiert.
3. Von der 19. Std bis zum Zyklusende. Es treten maximale Verzögerungswerte auf von mehr als 500% der Abkühlzeit.

Die dargestellten Ergebnisse aus den Versuchen mit niedriger Temperatur zeigen also eine Asymmetrie der Empfindlichkeitskurven. Dabei wird kein kontinuierlicher, sondern ein stufenartiger Anstieg zu höheren Verzögerungswerten beobachtet. Dieser ist allerdings nur für das erste SM nach Kältebeginn statistisch gesichert, da hier der mittlere Fehler $\pm$0.7 Std nicht überschreitet. Für die Kurve, die alle bis zum dritten SM nach Kältebeginn eingetretenen Verschiebungen zusammenfaßt (Abb. 2), gilt ein höherer mittlerer Fehler, nämlich von $\pm$1 Std. Dabei weist diese Kurve außerdem meist geringere Phasenverschiebungen auf. Die oben beschriebene Dreigliederung der Empfindlichkeitskurve, die in qualitativer Hinsicht identisch ist mit der von BÜNNING und WAGNER 1963 mitgeteilten, gilt also nur für das erste SM nach Kältebeginn.

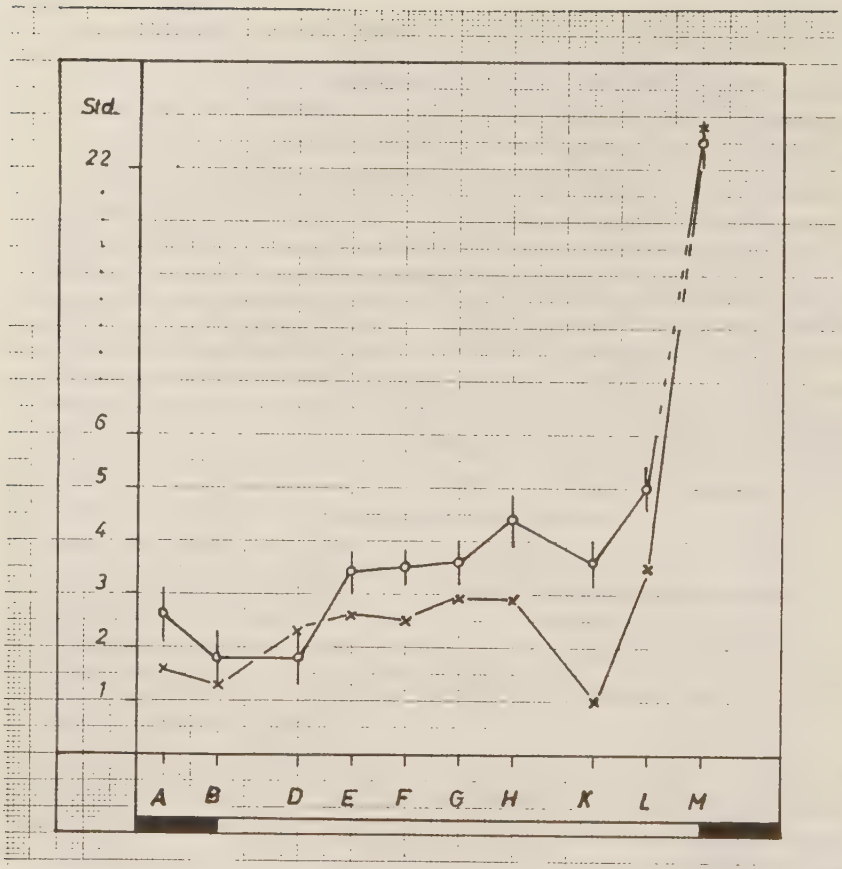


Abb. 2: Größe der Phasenverschiebung in einem Zyklus der endogenen Rhythmik von Phaseolus, wenn man die Pflanzen zu 10 verschiedenen Tageszeiten für 4 Std auf +2°C abkühlt und anschließend die Schwingungen im Dauerlicht registriert. Es treten ausschließlich Phasenverzögerungen auf mit einem Höhepunkt gegen Zyklusende.
Abszisse: Übertragungszeitpunkte der Pflanzen vom LDW in die Kühltruhe mit Dauerlicht. Zur Erklärung der Buchstaben A-M s.Abb. 1.
Ordinate: Phasenverzögerung in Std.
o ..... o Phasenverschiebung im Übertragungszyklus.
x ..... x Gesamtphasenverschiebung bis zum 3. Senkungsmaximum im Dauerlicht (Fehler ± 1SL).

Die großen Verzögerungswerte gegen Zyklusende können nach BÜNNING gedeutet werden als Hemmung der Energieversorgung eines angenommenen Spannungsvorganges. Es wäre daher zu erwarten, daß Atmungsgifte ebenfalls in diesen Abschnitten wirksam sein müßten. Geprüft wurden daraufhin Kaliumcyanid und 2.4 Dinitrophenol.

II. VERSUCHE MIT ATMUNGSGIFTEN

In früheren Arbeiten von KELLER 1960 und BALTES 1964 konnte bereits gezeigt werden, daß Stoffwechselgifte bei kurzfristiger Darbietung unterschiedlich auf einzelne Phasen der Rhythmik wirken. Um nun eventuell vorhandene Analogien zu Temperatur- und Lichtversuchen aufzufinden, wurde es notwendig, die Empfindlichkeit nicht nur annähernd während einer Phase zu prüfen, sondern den Beginn der Einwirkungszeit in Stunden nach dem letzten SM möglichst genau festzulegen. Ferner schien es ratsam, die Dauer der Giftgabe wie bei den schon beschriebenen Temperaturversuchen auf 4 Std zu bemessen. Bei längerer Einwirkungszeit werden zu große Abschnitte des Zyklus getroffen. Bei dem Atmungsgift KCN wurden 7 Versuchsserien angesetzt, die mit entsprechenden Zeiten der Temperaturversuche übereinstimmen, und zwar

1, 3, 5, 8, 12, 19 oder 21 Stunden

nach dem SM im LDW (Abb 1). Die abgeschnittenen Pflanzen nahmen das Gift in einer Konzentration von 0.045% mit dem Transpirationsstrom auf[x]. Etwa 1-2 Pflanzen gingen pro Serie ein. Das Versuchsprogramm für 2.4 Dinitrophenol entsprach mit einer Ausnahme demjenigen für KCN; die Versuchsserie zur 5. Std nach dem SM fiel fort. Die Konzentration war bei 2.4 DNP schwächer. Sie betrug nur 0.02%, was unter den gewählten Bedingungen wie bei KCN etwa die Grenze der Verträglichkeit bedeutet.

---

x) Alle angegebenen Konzentrationen sind stets bezogen auf 100 g Lösungsmittel.

1. Die Wirkung von KCN

Kaliumcyanid hemmt als spezifisches Atmungsgift die Tätigkeit der Cytochromoxydase, die ein Kupferhämoprotein ist (GRIFFITHS/WHARTON 1961). Die Cyanidionen blockieren durch Komplexbildung die Funktion von Eisen und Kupfer. Das Ausschalten der Cytochromoxydase braucht jedoch die Atmung nicht völlig stillzulegen. Die ebenfalls in die Atmungskette eingeschalteten Flavine können, da sie für CN unempfindlich sind, bis zu einem gewissen Grad kompensatorisch wirken.

Bei einer 4stündigen Aufnahme von KCN zeigt sich wie bei den Versuchen mit tiefen Temperaturen eine wechselnde Beeinflußbarkeit der einzelnen Zyklusabschnitte. Das kann an den unterschiedlichen Phasenverschiebungen leicht festgestellt werden. Die KCN-Einwirkung ist jedoch auffallend verschieden von derjenigen durch Kälte. Es treten bei KCN-Zugabe fast ausschließlich Verkürzungen der Perioden auf. Wichtig ist ferner, daß der Gifteinfluß sich von Periode zu Periode in verstärktem Maße geltend macht und daher auch nach 4 abgelaufenen Zyklen eine entsprechend große Differenz zu den Kontrollen bestehen bleibt (Abb. 5).

Eine Vorstellung der für KCN empfindlichen Zyklusabschnitte vermitteln Abb.4 und Abb.12 KCN. Letztere enthält die Gesamtphasenverschiebungen bis zur 4. Periode. Das Maximum der KCN-Wirkung liegt wesentlich früher, als man es nach den Temperaturversuchen erwarten könnte. Es tritt bei den Pflanzen auf, die 8 Std nach dem SM (= Zeitpunkt E), nicht erst in der Blattsenkungsphase, in die Giftlösung gestellt werden. Dabei fällt auf, daß sich die Werte dieses Maximums von ca. 3 Std auf 7 Std vergrößern. Es wird also schließlich fast der doppelte Wert der Vergiftungsdauer erreicht (Abb.12 KCN). Dieser Effekt kommt dadurch zustande, daß 3 von den 4 Perioden unter das Normalmaß abgekürzt werden. Die erste unmittelbar von der Giftwirkung getroffene Periode ist nur 18.5 Std lang, die nachfolgenden dauern 22.8 und 24.7 Std. Wir erhalten also durch KCN Übergangszyklen ("transients"). Von

anderen exogenen Einflüssen auf die Rhythmik sind solche bereits bekannt. Überträgt man die Pflanzen 3-4 Std vor dem SM im LDW in die Giftlösung, so unterscheiden sich im Gegensatz zu den Temperaturversuchen die Periodenlängen der behandelten Pflanzen nicht von denen der Kontrollen, da wir auch hier einen mittleren Fehler von $\pm$1 Std einrechnen müssen.

2. Die Wirkung von 2.4 Dinitrophenol

2.4 Dinitrophenol gehört zu den Stoffen, welche die Bildung von ATP in den Mitochondrien hemmem, ohne den Elektronentransport zu unterbrechen. Durch diesen als Entkopplung bezeichneten Vorgang wird der Prozeß der oxydativen Phosphorylierung verhindert.

Durch DNP wird nicht nur die Periodenlänge beeinflußt, sondern auch die Amplitude. Das 1. SM nach der DNP-Behandlung kann noch deutlich in Erscheinung treten, das 2. hingegen ist oft bis zur vollen Unkenntlichkeit ausgelöscht. Mit dem 3. oder 4. SM setzen die Schwingungen wieder von sich aus neu ein und erweisen sich im Vergleich mit den Kontrollen als phasenverschoben (Abb. 5).

Aus Abb.6 und 12 DNP ist die Reaktion auf die DNP-Vergiftung von der 1.-6. Periode zu entnehmen. Genau so wie KCN und Kälte wirkt auch DNP ganz verschieden auf die Längen der Zyklen ein, je nach dem Zeitpunkt des Beginns der Gifteinwirkung. Wiederum zeigt sich das Maximum der Giftempfindlichkeit dann, wenn die DNP-Behandlung der Pflanzen 8 Std nach ihrem SM begann (Zeitpunkt E) und die Blatthebung bereits eingesetzt hat. Das Hebungsmaximum der Blätter ist ja bekanntlich nicht so scharf ausgebildet wie das SM und kann über eine Zeitspanne von 10 Std ausgedehnt sein, die sich gleichmäßig um die Zyklusmitte gruppieren. Die Art der Phasenverschiebung zu diesem Zeitpunkt ist der durch KCN ausgelösten gerade entgegengesetzt. Es handelt sich hier um eine Periodenverlängerung, die in der vom Gifteinfluß getroffenen Periode ca. 4 Std, nach weiteren 5 Perioden über 5 Std ausmacht. Die Tatsache, daß eine so deutliche Giftwirkung auch noch nach 5-6 Zyklen

im Dauerlicht nachweisbar ist, läßt darauf schließen, daß nicht nur von der physiologischen Uhr gesteuerte Vorgänge getroffen worden sind, sondern das Steuerungszentrum selbst.

Der ganze Zyklus zeigt einen vierfachen Wechsel der DNP-Empfindlichkeit. Zu Beginn werden die Periodenlängen abgekürzt, bei den Übertragungszeiten von der 3. oder 4. Std (Abb. 1: Zeitpunkt B) an aber verlängert. Auf die abermalige Abkürzung folgt schließlich ab der 20. Std (M) eine neue Verlängerung. Diese letzte positive Phasenverschiebung geht konform mit der Wirkung tiefer Temperaturen.

3. Das Verhalten der Kontrollpflanzen unter der Einwirkung des Lichtes

Die in den bisherigen Abbildungen dargestellten Phasenverschiebungen haben wir dadurch erhalten, daß von den Mittelwerten der Versuchspflanzen diejenigen der Kontrollen subtrahiert wurden. Nun werden aber die Kontrollpflanzen selber durch die Übertragung in Dauerlicht beeinflußt, was sich auf die Größe der Phasenverschiebungen auswirkt.

Der LDW setzt sich aus 18 Lichtstunden von 5-23 Uhr und 6 Dunkelstunden zusammen. Da ferner das SM zur Zeit der Experimente mit Atmungsgiften bei 2-3 Uhr lag, bedeutete die Übertragung 1 Std bzw. 23 Std nach dem SM einen Übergang aus völliger Dunkelheit in Dauerlicht mit 400-600 Lux. Die Übertragungszeiten zur 3. und 21. Std lagen etwa auf der Grenze Dunkelheit/Licht bzw. Licht/Dunkelheit. Zu allen anderen Zeiten kamen die Pflanzen aus Licht von 7000-8000 Lux in das wesentlich schwächere Dauerlicht. Was diese unterschiedlichen Lichteinflüsse bewirken, zeigt Abb. 8.

Die Periodenlänge der Kontrollen schwankt im 1. Zyklus zwischen 27 und 22 Std. Ihre Verteilung variiert gesetzmäßig, da die maximalen Werte dann auftreten, wenn die Pflanzen aus dem Dunkeln ins Licht kommen, also stets im Bereich des SM stehen. Die kürzesten Perioden werden hingegen bei Übertragung zur 8. Std nach dem SM erreicht, wenn sich die Blätter in der Anfangsphase des Hebungsmaximums befinden und aus hellem Licht

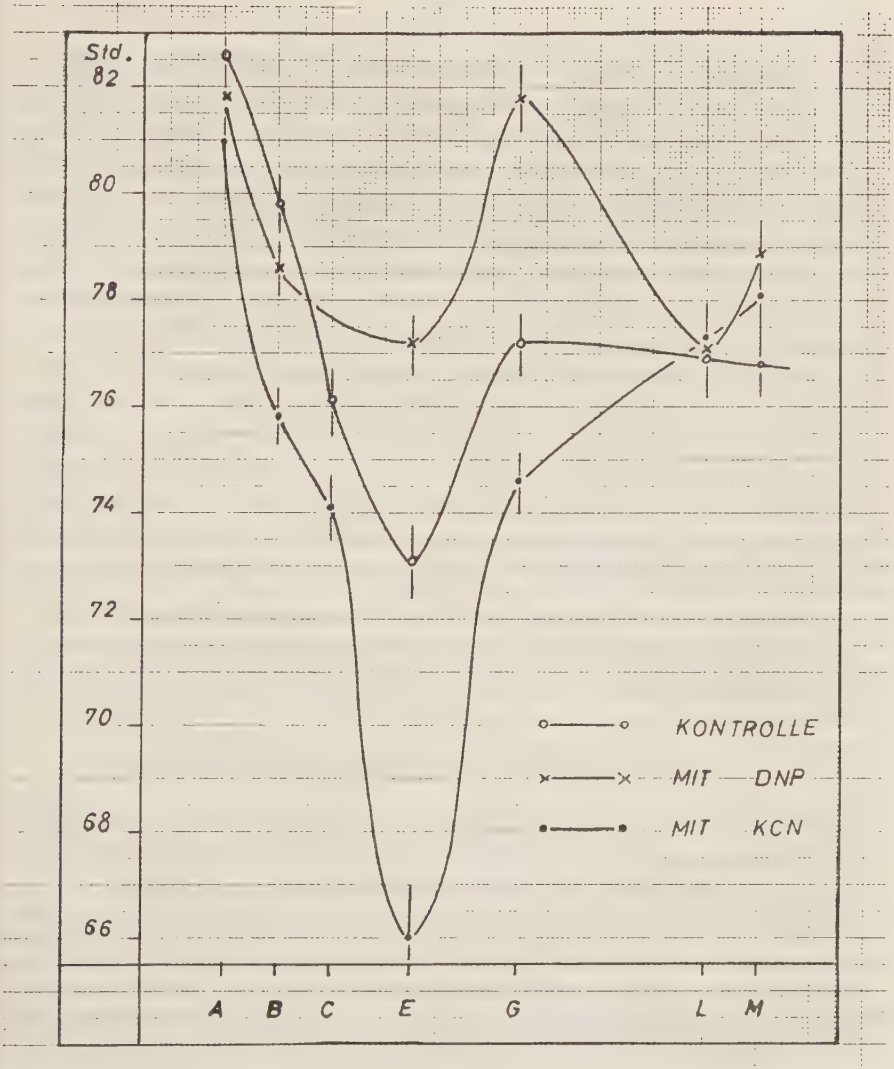


Abb. 7: Gesamtlängen von 3 Perioden der Blattschwingungen im Dauerlicht unter dem Einfluß einer 4stündigen Aufnahme von 2.4$_0$ DNP und KCN. Die Pflanzen wurden zu 7 verschiedenen Tageszeiten in die Giftlösung gestellt und machten außerdem einen Wechsel der Lichtintensität durch. DNP verlängert, KCN verkürzt die Periodenlängen, besonders bei den Übertragungszeitpunkten E und G.
Ordinate: Summe der Perioden 1, 2 und 3 im Dauerlicht in Std.
Abszisse: Übertragungszeitpunkte (Buchstaben A-M s. Abb. 1) der Pflanzen in Dauerlicht (Kontrollen) bzw. in Dauerlicht und Giftlösung.

in schwaches Dauerlicht überwechseln. Aus Abb. 8 ist auch ablesbar, daß die im Übertragungszyklus induzierte Lichtwirkung ähnlich wie der Einfluß von DNP noch nach dem 6. Zyklus im Dauerlicht nachweisbar ist und sich nur quantitativ etwas ändert. Wenn man die Lichtempfindlichkeitskurven mit den bereits beschriebenen, durch das Atmungsgift KCN hervorgerufenen Phasenverschiebungen vergleicht, so zeigt sich eine Übereinstimmung hinsichtlich des Ortes stärkster Zyklusverkürzung. Die KCN-vergifteten Pflanzen haben bei Versuchsbeginn zur 8. Std nach dem SM (Abb. 1: Zeitpunkt E) eine Periodenlänge von nur 18.5 Std, die Kontrollen von 21.9 Std. Es überlagern sich also Gift- und Lichteinfluß und bewirken gemeinsam die Periodenverkürzung auf 18.5 Std. DNP hingegen wirkt der periodenverkürzenden Tendenz des Lichtes so stark entgegen, daß sie gar nicht mehr zur Geltung kommt und im Endeffekt sogar eine stark positive Phasenverschiebung resultiert (Abb.7).

Für die nachfolgend beschriebenen Versuche mit Sauerstoffverdrängung fanden andere Kontrollpflanzen Verwendung, deren Lichtempfindlichkeit nur quantitativ etwas variiert.

III. VERSUCHE MIT VERDRÄNGUNG DES SAUERSTOFFS

Nach den positiven Ergebnissen mit Atmungsgiften schien es erfolgversprechend, von neuem die Frage zu untersuchen, in welcher Art Sauerstoffentzug die Rhythmik beeinflußt. BÜNNING hat schon 1935 an Phaseolus durch Evakuierung der Umgebung auf 30-40 mm Hg die Blattsenkung hemmen können, während die Blatthebung ungestört weiterlief. KELLER verdrängte Sauerstoff durch Stickstoff am gleichen Objekt. Kürzlich hat WILKINS Versuche veröffentlicht, in denen er die Wirkung eines zeitlich enger begrenzten Sauerstoffentzuges auf die endogene Rhythmik erstmals beschreibt. Zu genau definierten Zeiten wurde für 2, 4 und 6 Std der O_2-Gehalt stark vermindert und bis zu vier Phasen im Zyklus auf ihre Beeinflußbarkeit untersucht. Als Versuchsobjekt diente ihm die Avenakoleoptile mit ihrem endogenen periodischen Wachstum.

WILKINS prüfte jedoch immer nur einen einzigen Zyklus. Die hier zu beschreibenden Versuche bringen eine Unterteilung des Zyklus in 5 bzw. 6 Abschnitte. Die Auswirkung der O_2-Verdrängung durch Stickstoff und Kohlendioxyd wird durch 6 Perioden hindurch verfolgt. Das Versuchsprogramm umfaßt also 5 Versuchsreihen bei Verdrängung durch Stickstoff und 6 bei Verdrängung durch Kohlendioxyd. Die O_2-Verdrängung begann

3, 8, 12, 16, 19 oder 22 Stunden

nach dem letzten SM (Abb. 1). Auch bei diesen Versuchen betrug die Einwirkungszeit wie bei allen bisherigen Experimenten 4 Std. Alle Versuche wurden wiederholt.

1. Die Wirkung der Verdrängung durch Stickstoff

Auch der Aufenthalt der Phaseoluspflanzen in N_2-Atmosphäre bringt, abhängig vom Übertragungszeitpunkt, unterschiedliche Phasenverschiebungen mit sich. Das Maximum der Empfindlichkeit liegt dort, wo man es nach den vorausgegangenen Versuchen mit Atmungsgiften auch vermuten würde, nämlich in der Anfangsphase der Blatthebung. Wie bei DNP-Vergiftung tritt auch bei O_2-Verdrängung zu diesem Zeitpunkt eine Verstärkung der Phasenverschiebung von Periode zu Periode ein, die schließlich nach 6 abgelaufenen Zyklen 125% der Behandlungszeit erreicht. Alle Perioden von der 1. bis zur 6. sind länger als die der dazugehörigen Kontrollpflanzen (Abb. 9: Zeitpunkt E). Dieses Phänomen ist bei allen anderen Übertragungszeiten nur noch 2 Std vor dem SM in ähnlicher Konsequenz feststellbar. Bei den übrigen summieren sich die längeren Kontrollwerte jedoch niemals so stark, daß auch nach 6 Perioden negative Phasenverschiebungen eintreten. Man findet infolgedessen bei der alle Verschiebungen zusammenfassenden letzten Empfindlichkeitskurve (Abb.12 N_2 nur Phasenverzögerungen. Die geringsten Phasenverschiebungen sind kürzer als die Behandlungszeit. Sie stellen sich ein, wenn der O_2-Entzug 3 Std nach bzw. 5 Std vor dem SM begann (Abb. 1 Zeitpunkt B bzw. M).

2. Die Wirkung der Verdrängung durch Kohlendioxyd

Vierstündige Begasung mit CO_2 im Licht beeinflußt die Rhythmik in qualitativ ähnlicher Weise wie ein entsprechender Aufenthalt in N_2-Atmosphäre (Abb.11 und 12 CO_2). Das Maß der Phasenverschiebung ist jedoch bei CO_2 bedeutend größer. Es wird wiederholt ein Wert erreicht, der die Einwirkungszeit von CO_2 um das 2-3fache übertrifft. Nach 4 Zyklen im Dauerlicht sind alle Verzögerungen ebenso groß oder größer als die Behandlungszeit. Bei allen 6 geprüften Zeiten im Zyklus ergaben sich Gesamtphasenverschiebungen, die sich von Periode zu Periode beträchtlich vergrößern. Diese Addition der Phasenverschiebungen scheint abhängig zu sein vom Zeitpunkt des Versuchsbeginns. In CO_2-Atmosphäre werden die Periodenlängen im Mittel fast ausnahmslos 29-32 Std lang. Sauerstoffentzug durch CO_2 wirkt also in viel intensiverer Weise atmungshemmend als Sauerstoffentzug durch N_2. Aber auch PH-Änderungen durch gelöstes CO_2 könnten zusätzlich wirksam sein. Die Pflanzen werden äußerlich stärker in Mitleidenschaft gezogen. Häufig welkten die Blattspreiten. Etwa ein Drittel der Pflanzen einer Serie überstand den Versuch nicht. Der Ausfall ist also größer als bei den früher beschriebenen Versuchen.

Wie DNP-Einwirkung vermag CO_2-Begasung die Amplitude zu unterdrücken. Die Schwingung setzt dann von sich aus phasenverschoben wieder ein (Abb. 10). Verschiedene Kurvenbilder zeigen nach CO_2-Behandlung der Pflanzen Auflösung der normalen Zyklen in viele kurzperiodische Schwingungen. Die Rhythmik wird also bis zur völligen Desynchronisation verändert. Nach mehreren Tagen setzt unter den konstanten Außenbedingungen eine Resynchronisation ein (Abb. 10).

Bei Sauerstoffentzug durch CO_2 resultieren im Gegensatz zu allen übrigen von uns geprüften Agenzien zweigipflige Empfindlichkeitskurven (Abb.12 CO_2). Man erhält zwei maximale Phasenverzögerungen. Die Lage der beiden gleichwertigen Maxima im Zyklus harmoniert aber mit den bisherigen Ergebnissen. Wie tiefe Temperatur erzeugt CO_2-Atmosphäre in der Senkungsphase

der Blätter hohe Verzögerungen, und mit DNP- und N_2-Einfluß stimmt das 1. Empfindlichkeitsmaximum zur Zeit der Blatthebung überein.

Auch CN_2-Behandlung erzwingt bleibende Phasenverschiebungen ohne rückläufige Tendenz. Das früher oft beobachtete Zurückfallen nach 3 oder 4 Perioden in die Phasenlage der Kontrollen findet nicht statt.

D I S K U S S I O N

Die Einwirkung so verschiedener Agenzien wie Temperatur, Licht, Stoffwechselgift und Sauerstoffentzug auf die endogen tagesperiodische Blattbewegung von Phaseolus multiflorus ergibt auch recht unterschiedliche Empfindlichkeitskurven (Abb. 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11.) Nur einzelne Abschnitte gestatten einen direkten Vergleich. So laufen in den letzten 3-4 Stunden vor dem SM physiologische Vorgänge ab, die sowohl durch Kühlung auf +2°C als auch durch KCN, DNP und CO_2 gehemmt werden. In derselben Phase bewirkt der Übergang von geringer zu hoher Lichtintensität bei den Kontrollpflanzen eine erhebliche Verlängerung der Perioden (Abb. 8). Weitergehende Übereinstimmung des ganzen Kurvenverlaufs herrscht hingegen bei den Empfindlichkeitskurven, die durch Atmungshemmung mit DNP, N_2 und CO_2 zustandekommen.

Bereits die Versuche mit Phaseolus von BÜNNING und TAZAWA und besonders von WAGNER 1963 zeigten bei kurzfristiger Senkung der Temperatur unter +5°C eine starke Unterschiedlichkeit der Phasenverschiebung in den verschiedenen Abschnitten einer Schwingungsperiode der endogenen Rhythmik. Die größten Verzögerungswerte traten in der Blattsenkungsphase gegen Ende des Zyklus, die geringsten hingegen zu Beginn desselben auf. Dieses charakteristische Verhalten in der Empfindlichkeit gegen Kühlung konnte durch die in dieser Arbeit beschriebenen Temperaturversuche erneut aufgefunden werden. Ein

Unterschied zu den Ergebnissen WAGNERS besteht jedoch darin, daß bei vierstündiger Kühlung auf +2° Phasenverzögerungen über den ganzen Zyklus hinweg auftreten, gegen Kälteeinwirkung unempfindliche Zyklusabschnitte also völlig fehlen. Die nach BÜNNING am Mechanismus der endogenen Tagesrhythmik beteiligten energieabhängigen Restitutionsprozesse müssen also sehr früh einsetzen und können anscheinend erst bei einer Temperatur von 1-3° erfaßt werden.

Bisher verliefen alle Versuche ergebnislos, die darauf abzielten, die endogene Tagesperiodik nachhaltig mit Atmungsgiften zu beeinflussen (BÜHNEMANN 1955, BÜNNING 1956, KELLER 1960). Das führte gemeinsam mit anderen Beobachtungen zu der Anschauung, daß der Mechanismus der biologischen Uhr vor allem mit physikalischen und weniger mit chemischen Komponenten arbeite. Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse aus den Versuchsserien mit KCN und 2.4 DNP zeigen, daß auch Atmungsgifte bei kurzfristigem Einfluß Phasenverschiebungen erzeugen können, die ohne rückläufige Tendenz selbst noch nach 4-6 Perioden im Dauerlicht nachweisbar sind. Eine besondere Eigenart von KCN besteht darin, daß es die Periodenlängen verkürzt, vor allem, wenn seine 4stündige Einwirkung 8 Stunden nach dem SM der Blätter begann. Alle anderen von uns geprüften atmungshemmend wirkenden Agenzien erzeugen zu diesem Übertragungszeitpunkt Phasenverzögerungen. Verkürzungen der Perioden infolge Stoffwechsellähmung wurden bei Phaseolus schon beobachtet, wenn man die Pflanzen auf 15° oder 10° abkühlte (BÜNNING und TAZAWA). In derselben Weise muß man wohl die Wirkung von KCN deuten. Eine zur KCN-Wirkung etwa analoge Beeinflussung der Rhythmik erzielte BALTES mit Digitonin und Methylalkohol. Bei einer dreistündigen Behandlung zu Anfang der Blatthebung entstehen Verkürzungen, die in der 4. Periode 6-7 Std betragen.

Die Wirkung von DNP auf die endogene Rhythmik wurde noch weiter verfolgt als diejenige von KCN. Auch hier wird der höchste Verschiebungswert, eine Periodenverlängerung, erst im zuletzt aufgezeichneten Zyklus erreicht. Das ist wohl nur möglich,

wenn zentrale Prozesse im Mechanismus der Uhr getroffen wurden. Dafür spricht noch eine weitere Beobachtung. Wie schon geschildert, kann DNP bei Phaseolus das 1. oder auch 2. der direkten Giftwirkung folgende SM bis zur Unkenntlichkeit auslöschen. Wenn nur der von der Uhr gesteuerte Vorgang, in diesem Falle die Blattbewegung, betroffen wäre, dürfte später keine bleibende Phasenverschiebung eintreten. Die aber nach vielen Stunden von sich aus wieder erscheinenden SM sind phasenverschoben und bleiben es auch unvermindert, soweit die Kurven überhaupt registriert wurden. Die von BÜHNEMANN seinerzeit an Oedogonium festgestellte Tatsache, daß Cyanide oder DNP wohl den von der endogenen Tagesrhythmik abhängigen Vorgang, hier die Sporulation, unterdrücken können, nicht jedoch die Uhr selbst, die mit normaler Geschwindigkeit weiterläuft, ist also kein prinzipieller Grundzug in der Wirkungsweise von Atmungsgiften. Damit wäre ein Hinweis gewonnen, daß energieproduzierende chemische Prozesse, nicht nur energieverbrauchende physikalische Vorgänge,im Mechanismus der Uhr wichtig sein müssen. Auch die Versuche mit Sauerstoffverdrängung schließen die Annahme einer Mitwirkung chemischer Faktoren nicht aus. Neben der weitgehenden Parallelität hinsichtlich der Lage maximaler Phasenverzögerungen verstärken sich ebenfalls bei N_2- und CO_2-Behandlung die Wirkungen von Periode zu Periode. Andererseits wäre es aber auch denkbar, daß durch Sauerstoffentzug in den Pflanzen als Zwischenprodukte Alkohole entstehen, die ähnlich wie D_2O in den Mechanismus der Rhythmik eingreifen könnten.

Die Mitwirkung einer chemischen Komponente im Steuerungszentrum der rhythmischen Vorgänge ist kürzlich durch KARAKASHIAN und HASTINGS bei der Alge Gonyaulax wahrscheinlich gemacht worden. Zugabe von Actinomycin D veränderte die Lichtaussendung und Photosynthese derart, daß die gewöhnliche Periodik verschwand. Actinomycin bindet das Guanin von DNA und hemmt damit die DNA-abhängige RNA-Synthese, die somit am Funktionieren der Uhr beteiligt sein dürfte. Zu ähnlichen Feststellungen gelangte MACDOWALL an Tabakwurzeln.

Im Gegensatz zu früheren Ergebnissen (BÜNNING 1935) konnte bei den hier geschilderten Versuchen mit O_2-Verdrängung durch N_2 nur während des Hebens der Blätter eine deutlich für O_2-Mangel empfindliche Phase gefunden werden. Denselben Erfolg hatte KELLER. Bei Verdrängung der Luft durch CO_2 ergab sich außerdem ein zweites Verzögerungsmaximum für die Zeitdauer der Blattsenkung. Möglicherweise sind PH-Wertänderungen durch Aufnahme des gasförmigen CO_2 für diesen Unterschied mitverantwortlich.

WILKINS hat 1963 den Einfluß niederer Sauerstoffkonzentrationen auf die Rhythmik der Wachstumsrate von Avenakoleoptilen untersucht. Es stellte sich heraus, daß die Phasenverschiebungen an allen geprüften Orten im Zyklus nie kleiner waren als die Behandlungszeiten. Aus dieser Tatsache zieht WILKINS den Schluß, es könne keinen Relaxationsoszillator im Sinne BÜNNINGS geben, denn nach BÜNNING müßten Phasen mit geringem oder fehlendem Energieverbrauch abwechseln mit Phasen hohen Energieverbrauchs. Nun bezieht WILKINS seine Aussagen aber immer nur auf einen einzigen Zyklus, den unmittelbar vom Sauerstoffentzug betroffenen. Von vielen Versuchen über die chemische Beeinflussung des Oszillators ist jedoch bekannt, daß in den nachfolgenden Zyklen Änderungen eintreten können. Es ist deshalb nicht gesagt, daß nach 3, 4 oder noch mehr Wachstumsperioden die Quantität der Verschiebungen zu den von WILKINS geprüften Zeiten immer noch dieselbe ist wie im 1. Zyklus.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die endogen tagesperiodischen Blattbewegungen von Phaseolus multiflorus können durch niedere Temperatur, Atmungsgift, Sauerstoffentzug sowie durch Licht allein tiefgreifend beeinflußt werden.

1. Niedere Temperatur von +2°C und 4 Std Dauer bewirkt, wenn der Versuch 1 Std nach dem SM begann, eine Verzögerung bis zu 2.5 Std; begann er 3 Std vor dem SM, so resultiert eine maximale Phasenverzögerung von 22 Std. Während des Blatthebungsmaximums entspricht die Phasenverzögerung der Abkühlzeit von 4 Std, die Uhr wird also sistiert, vor allem im 1. Zyklus.

2. Das Atemgift KCN beeinflußt in einer Konzentration von 0.045% bei 4stündiger Aufnahme die Rhythmik bis mindestens zum 4. noch registrierten Zyklus. Seine Wirkung ist derjenigen von tiefer Temperatur entgegengesetzt, da fast in allen Zyklen nur Periodenverkürzungen auftreten. Überträgt man die Pflanzen 8 Std nach dem SM in die Giftlösung, so erhält man den Höchstwert der Verkürzungszeit, die nach 4 Perioden 7.3 Std ausmacht.

3. Das Atemgift 2.4 Dinitrophenol wirkt in einer Konzentration von 0.02% bei 4stündiger Aufnahme nachhaltig bis zum 6. noch registrierten Zyklus. Es kommen hauptsächlich Periodenverlängerungen vor, deren Maximum ebenfalls bei Versuchsbeginn zur 8. Std nach dem SM auftritt. Zur selben Zeit hat sich die Phasenverschiebung nach 6 Perioden bis zu 5.4 Std summiert. Außerdem vermag DNP die Amplitude der Anfangsschwingungen ganz auszulöschen.

4. Vierstündiger Sauerstoffentzug bei Verdrängung durch N_2 beeinflußt den 1. Zyklus nur gering. Die nachfolgenden Zyklen sind aber über ihr normales Maß hinaus verlängert; es entstehen deshalb immer größere Gesamtverschiebungen, deren Verzögerungsmaximum zur selben Zeit wie bei DNP-Einfluß liegt und 5 Std beträgt.

5. Vierstündiger Sauerstoffentzug bei Verdrängung durch CO_2 wirkt sofort stark auf die Periodenlängen ein. Die Phasenverzögerungen steigern sich zu allen 6 geprüften Tageszeiten und nehmen schließlich nach 6 Perioden relativ hohe Werte ein, die allesamt größer sind als die Behandlungszeit. Die Zunahme der Verzögerung scheint abhängig zu sein von

der Lage im Zyklus. Die Empfindlichkeitskurve ist zweigipflig. Ein Maximum liegt zur selben Zeit wie bei DNP- und N_2-Einwirkung, das zweite dort, wo auch für tiefe Temperaturen höchste Empfindlichkeit herrscht.

6. CO_2 und DNP können den von der Uhr gesteuerten Vorgang, die Blattbewegung, unterdrücken und gleichzeitig durch Periodenverlängerung bleibende Phasenverschiebungen erzeugen, d.h. die Uhr beeinflussen.

7. Wirkt nur Lichtwechsel auf die Pflanzen, wenn sie aus der Klimakammer mit LDW in eine andere mit Dauerlicht übertragen werden, so treten ebenfalls verlängerte Perioden auf, jedoch nur im Bereich des SM.

8. Die verschiedenen Empfindlichkeitskurven gestatten nur in einzelnen Teilabschnitten einen direkten Vergleich. So laufen in den letzten 3-4 Std des Zyklus Vorgänge ab, die sowohl durch Kühlung auf $+2^{o}$ als auch durch DNP und CO_2 gehemmt werden.

9. Bei Einwirkung von KCN, DNP, N_2 und CO_2 sind Phasenverschiebungen festzustellen, die sich summieren, so daß die Verschiebungen ihr volles Ausmaß stets erst in der letzten registrierten Periode erreichen.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1 Übertragungszeitpunkte der Pflanzen aus dem Licht-Dunkel-Wechsel in Dauerlicht (im Text S. 14)

Abb. 2 Größe der Phasenverschiebungen bis zum 1. und Senkungsmaximum nach Kältebeginn (im Text S. 6)

Abb. 3 Längen der durch Temperatur von +2°C beeinflußten Perioden

Abb. 4 Längen der durch KCN-Lösung beeinflußten Perioden

Abb. 5 Blattschwingungen unter dem Einfluß von 2.4 DNP und KCN

Abb. 6 Längen der durch 2.4 DNP beeinflußten Perioden

Abb. 7 Summe der Perioden 1 bis 3 im Dauerlicht mit und ohne Einfluß von KCN und 2.4 DNP (im Text S. 11)

Abb. 8 Einfluß des Lichtintensitätswechsels auf die Periodenlängen beim Übergang vom LDW in Dauerlicht

Abb. 9 Längen der durch Stickstoffatmosphäre beeinflußten Perioden

Abb.10 Blattschwingungen unter dem Einfluß einer CO_2 Atmosphäre

Abb.11 Längen der durch CO_2-Atmosphäre beeinflußten Perioden

Abb.12 Größe der Gesamtphasenverschiebung nach 3-6 Schwingungen im Dauerlicht, beeinflußt durch KCN, 2.4 DNP, N_2 und CO_2

Abb. 3: Längen der Perioden von Phaseolus, wenn man die Pflanzen zu 10 verschiedenen Tageszeiten (A-M) aus dem Licht-Dunkel-Wechsel herausnimmt und die Blattschwingungen entweder sofort im Dauerlicht registriert (1.) oder vorher erst 4 Std., ebenfalls bei Dauerlicht, auf +2° C abkühlt (2.). Maximale Wirkung bei M.
■ Dunkelzeit; ▭ Lichtzeit.
Mittlerer quadratischer Fehler kleiner als ±0.7 Std.
Zur Erklärung der Buchstaben A-M siehe Abb. 1.

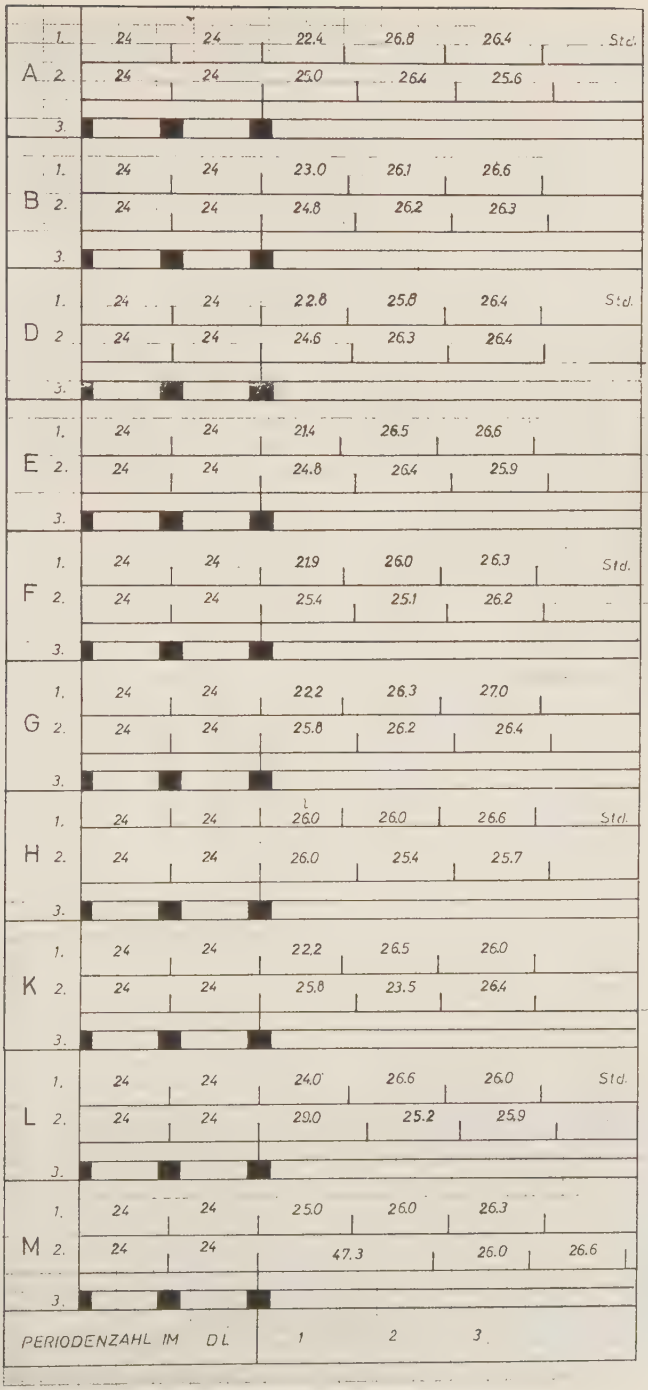

A
1. 24 24 22.4 26.8 26.4 Std.
2. 24 24 25.0 26.4 25.6
3.
B
1. 24 24 23.0 26.1 26.6
2. 24 24 24.8 26.2 26.3
3.
D
1. 24 24 22.8 25.8 26.4 Std.
2 24 24 24.6 26.3 26.4
3.
E
1. 24 24 21.4 26.5 26.6
2. 24 24 24.8 26.4 25.9
3.
F
1. 24 24 21.9 26.0 26.3 Std.
2. 24 24 25.4 25.1 26.2
3.
G
1. 24 24 22.2 26.3 27.0
2. 24 24 25.8 26.2 26.4
3.
H
1. 24 24 26.0 26.0 26.6 Std.
2. 24 24 26.0 25.4 25.7
3.
K
1. 24 24 22.2 26.5 26.0
2. 24 24 25.8 23.5 26.4
3.
L
1. 24 24 24.0 26.6 26.0 Std.
2. 24 24 29.0 25.2 25.9
3.
M
1. 24 24 25.0 26.0 26.3
2. 24 24 47.3 26.0 26.6
3.
PERIODENZAHL IM DL 1 2 3

Abb. 4: Länge der Perioden von Phaseolus, wenn man die Pflanzen zu 7 verschiedenen Tageszeiten (A-M) 4 Std. lang eine 0,045 prozentige KCN-Lösung mit dem Transpirationsstrom aufnehmen läßt und die Blattschwingungen im Dauerlicht registriert (2.). Die stärkste Wirkung, eine Periodenverkürzung, ergibt sich bei dem Übertragungszeitpunkt E. Die Kontrollen (1.) erhielten nur Aqua dest.
■ Dunkelzeit; ▭ Lichtzeit.
Mittlerer quadratischer Fehler einer Periode unter $\pm$0.7 Std. Zur Erklärung der Buchstaben A-M siehe Abb. 1.

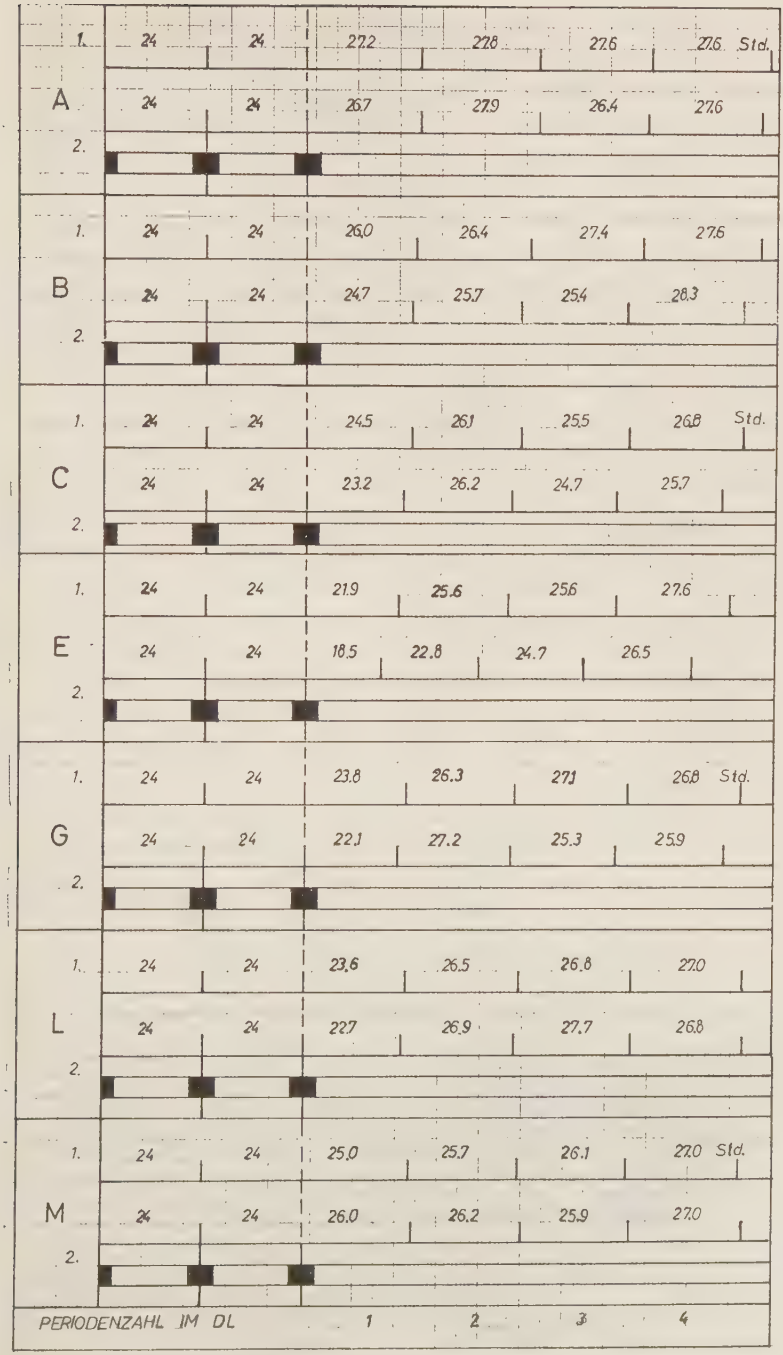

1.
24
24
27.2
27.8
27.6
27.6 Std.
A
24
24
26.7
27.9
26.4
27.6
2.
1.
24
24
26.0
26.4
27.4
27.6
B
24
24
24.7
25.7
25.4
28.3
2.
1.
24
24
24.5
26.1
25.5
26.8 Std.
C
24
24
23.2
26.2
24.7
25.7
2.
1.
24
24
21.9
25.6
25.6
27.6
E
24
24
18.5
22.8
24.7
26.5
2.
1.
24
24
23.8
26.3
27.1
26.8 Std.
G
24
24
22.1
27.2
25.3
25.9
2.
1.
24
24
23.6
26.5
26.8
27.0
L
24
24
22.7
26.9
27.7
26.8
2.
1.
24
24
25.0
25.7
26.1
27.0 Std.
M
24
24
26.0
26.2
25.9
27.0
2.
PERIODENZAHL IM DL
1
2
3
4

Abb. 5: Einfluß der Atmungsgifte DNP und KCN auf den Schwingungsverlauf der Blattbewegungen. DNP löscht einzelne Amplituden völlig aus und verschiebt gleichzeitig die rhythmischen Schwingungen durch Verlängern der Perioden; KCN verkürzt sie. Kein Rückfall in die Phasenlage der Kontrollen.
[redacted] Zeitdauer der Vergiftung.

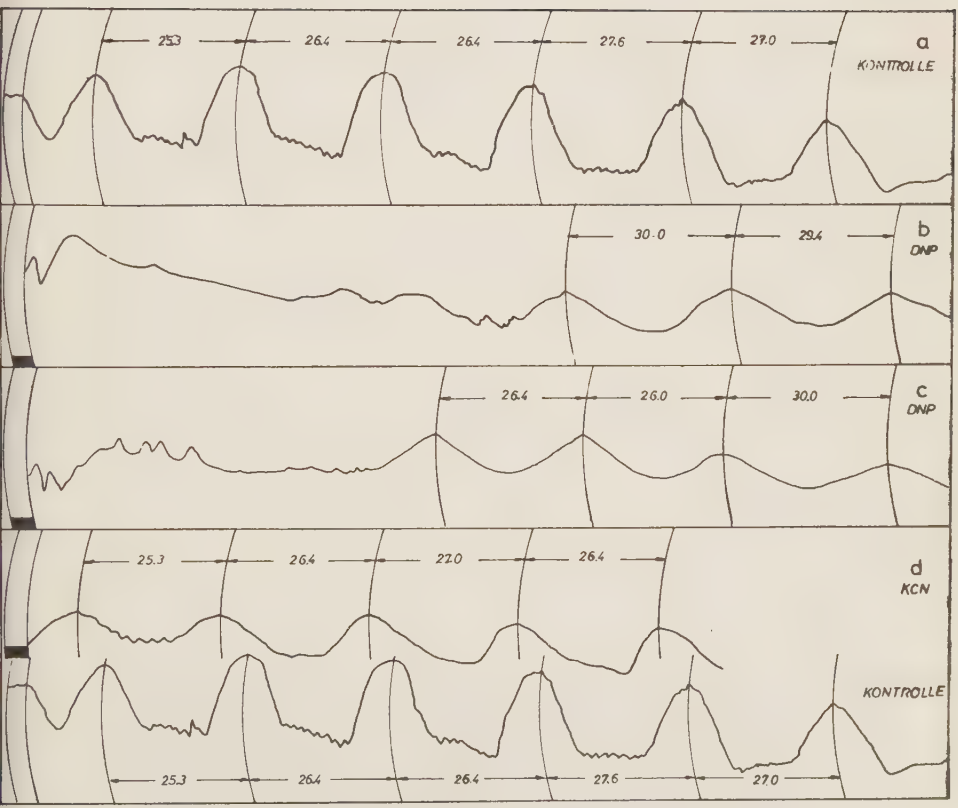

25.3
26.4
26.4
27.6
27.0
a
KONTROLLE
30.0
29.4
b
DNP
26.4
26.0
30.0
c
DNP
25.3
26.4
27.0
26.4
d
KCN
KONTROLLE
25.3
26.4
26.4
27.6
27.0

Abb. 6: Länge der Perioden von Phaseolus, wenn man die Pflanzen zu 6 verschiedenen Tageszeiten (A-M) 4 Std. lang eine 0.02 prozentige 2.4 DNP-Lösung mit dem Transpirationsstrom aufnehmen läßt und die Schwingungen im Dauerlicht (DL) registriert (2.). Maximale Periodenverlängerung bei Übertragungszeitpunkt E. Wegen Amplitudenauslöschung wurden die drei Anfangsperioden im DL zusammengefaßt. Die Kontrollen (1.) erhielten nur Aqua dest.

▬ Dunkelzeit; ▭ Lichtzeit.

Mittlerer quadratischer Fehler einer Periode unter ±0.7 Std.

Zur Erklärung der Buchstaben A-M siehe Abb. 1.

A	1.	24	24	82.6	27.6	28.5	27.3 Std.
	2.	24	24	81.8	27.6	26.8	28.4
B	1.	24	24	79.8	27.6	27.9	27.7
	2.	24	24	76.6	26.5	27.6	29.2
E	1.	24	24	73.1	26.7	27.4	27.2 Std.
	2.	24	24	77.2	27.4	27.5	27.6
G	1.	24	24	77.2	26.8	28.4	28.2
	2.	24	24	81.8	27.0	26.6	27.3
L	1.	24	24	76.9	27.0	27.4	28.0 Std.
	2.	24	24	77.0	25.0	26.6	26.1
M	1.	24	24	76.8	27.0	27.6	27.3
	2.	24	24	78.9	27.0	28.4	28.0
PERIODENZAHL IM DL				1 u. 2 u. 3	4	5	6

Abb. 8: Obere Kurve:
Länge der Perioden von Phaseolus, wenn die Pflanzen aus einer Klimakammer mit Licht-Dunkel-Wechsel übertragen wurden in andere Klimakammern mit Dauerlicht. Nur in der Phase des SM stärkere Periodenverlängerungen. Ordinate: Länge der Übertragungsperioden in Std. Abszisse wie

Untere Kurve:
Gesamtperiodenlängen nach 6 Perioden im Dauerlicht. Die bei der Übertragung induzierten Phasenverschiebungen haben sich verstärkt.
Ordinate: Summe der Periodenlängen in Std.
Abszisse: Übertragungszeitpunkte vom LDW in Dauerlicht.

Pflanzen wurden aus Dunkelheit in Dauerlicht von 400-600 Lux übertragen.

Pflanzen kamen aus Licht 7000-8000 Lux in Dauerlicht von 400-600 Lux.

Mittlerer Fehler: kleiner als ± 1.5 Std.
Zur Erklärung der Buchstaben A-O siehe Abb. 1.

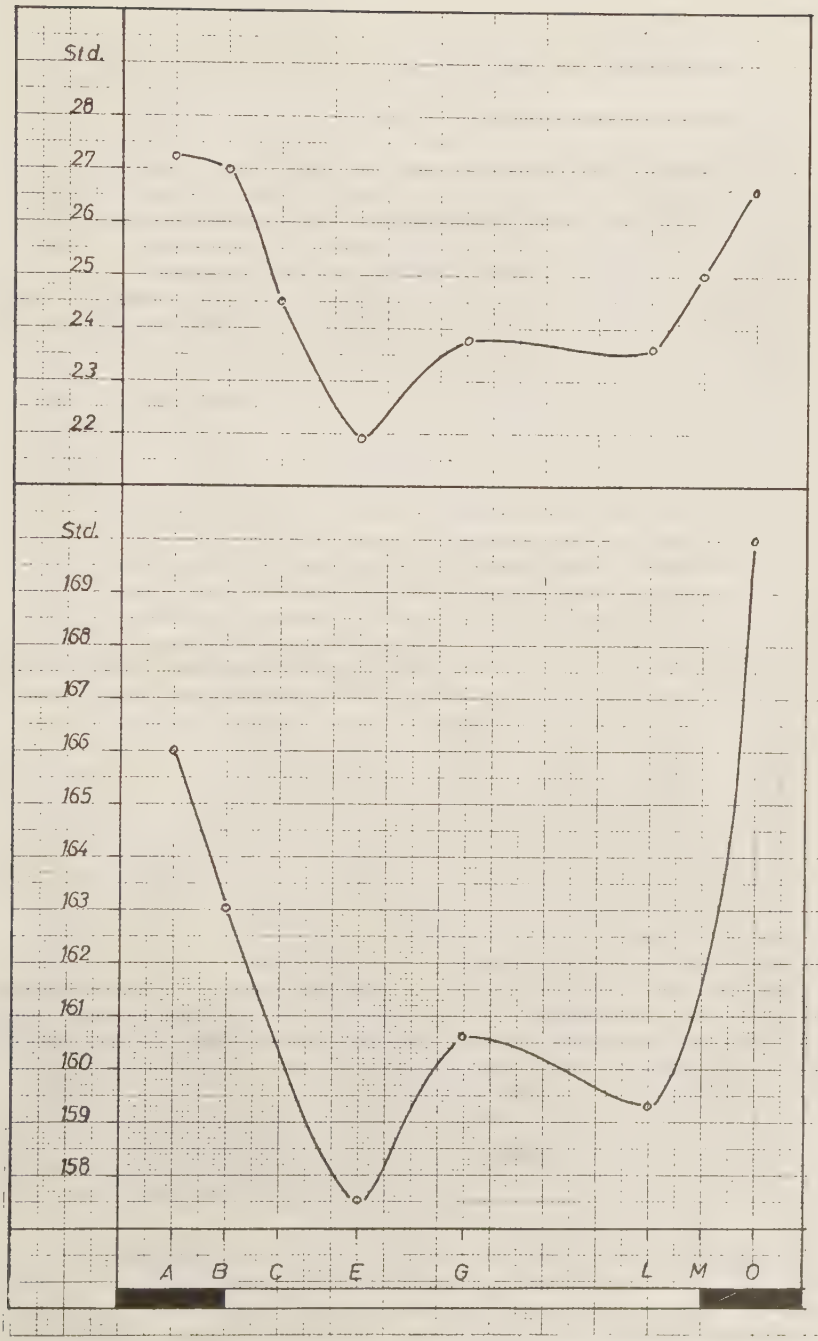

Std.
28
27
26
25
24
23
22
Std.
169
168
167
166
165
164
163
162
161
160
159
158
A
B
C
E
G
L
M
O

Abb. 9: Länge der Perioden von Phaseolus, wenn man die Pflanzen zu 5 verschiedenen Tageszeiten (A-N) 4 Std. lang der Sauerstoffverdrängung durch molekularen Stickstoff aussetzt (2.). Auch hier tritt das Maximum der Periodenverlängerung bei Übertragungszeitpunkt E auf.
Periodenlängen der Kontrollen darüber (1.).
▬ Dunkelzeit; ▭ Lichtzeit.
Mittlerer quadratischer Fehler einer Periode kleiner als ±0.7 Std. Zur Erklärung der Buchstaben A-N siehe Abb. 1.

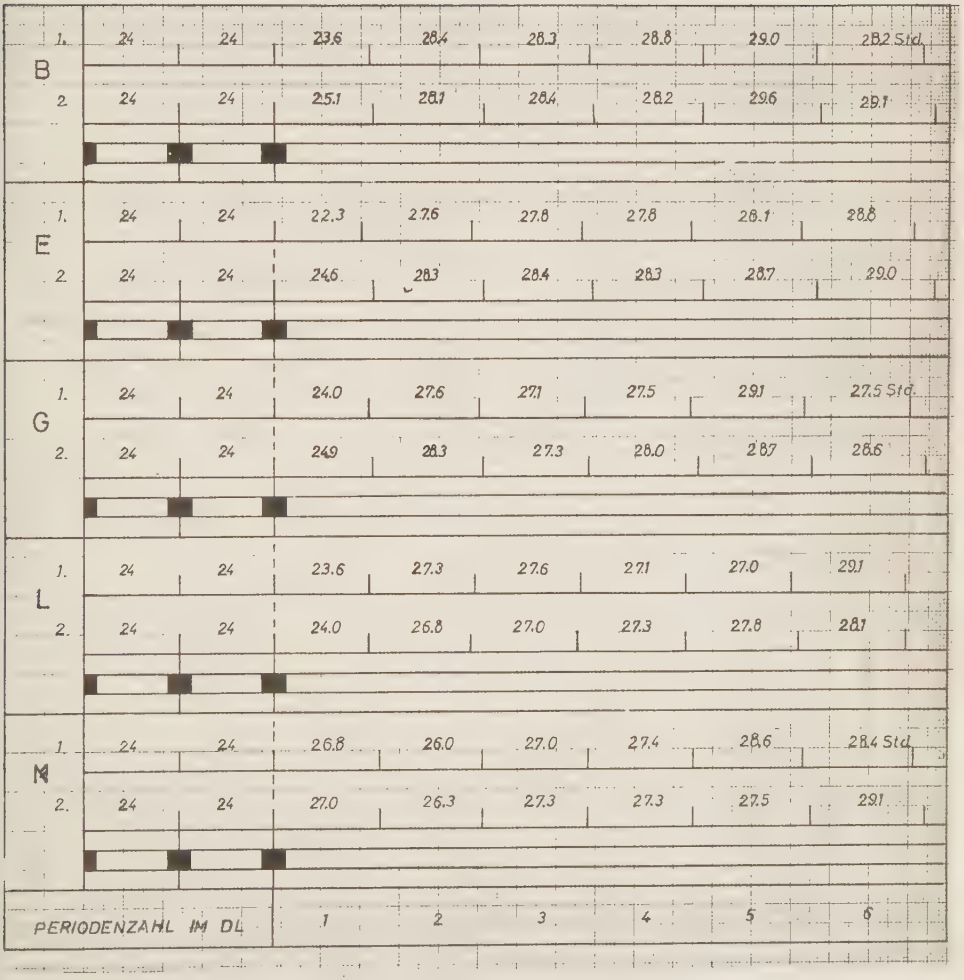

B
1. 24 24 23.6 28.4 28.3 28.8 29.0 28.2 Std.
2. 24 24 25.1 28.1 28.4 28.2 29.6 29.1
E
1. 24 24 22.3 27.6 27.8 27.8 28.1 28.8
2. 24 24 24.6 28.3 28.4 28.3 28.7 29.0
G
1. 24 24 24.0 27.6 27.1 27.5 29.1 27.5 Std.
2. 24 24 24.9 28.3 27.3 28.0 28.7 28.6
L
1. 24 24 23.6 27.3 27.6 27.1 27.0 29.1
2. 24 24 24.0 26.8 27.0 27.3 27.8 28.1
M
1. 24 24 26.8 26.0 27.0 27.4 28.6 28.4 Std.
2. 24 24 27.0 26.3 27.3 27.3 27.5 29.1
PERIODENZAHL IM DL 1 2 3 4 5 6

Abb. 10: Einfluß von 4stündigem Sauerstoffentzug durch CO_2 auf den Schwingungsverlauf der Blattbewegungen. Die Perioden werden verlängert. Kein Rückfall in die alte Phasenlage.
a: Kontrolle
b: mit CO_2, 1. Amplitude ausgelöscht
c: mit CO_2 ohne Amplitudenauslöschung
d: Desynchronisation durch CO_2 mit nachfolgender Resynchronisation, darunter Kontrolle.
▬ Zeitdauer des Sauerstoffentzugs durch CO_2.

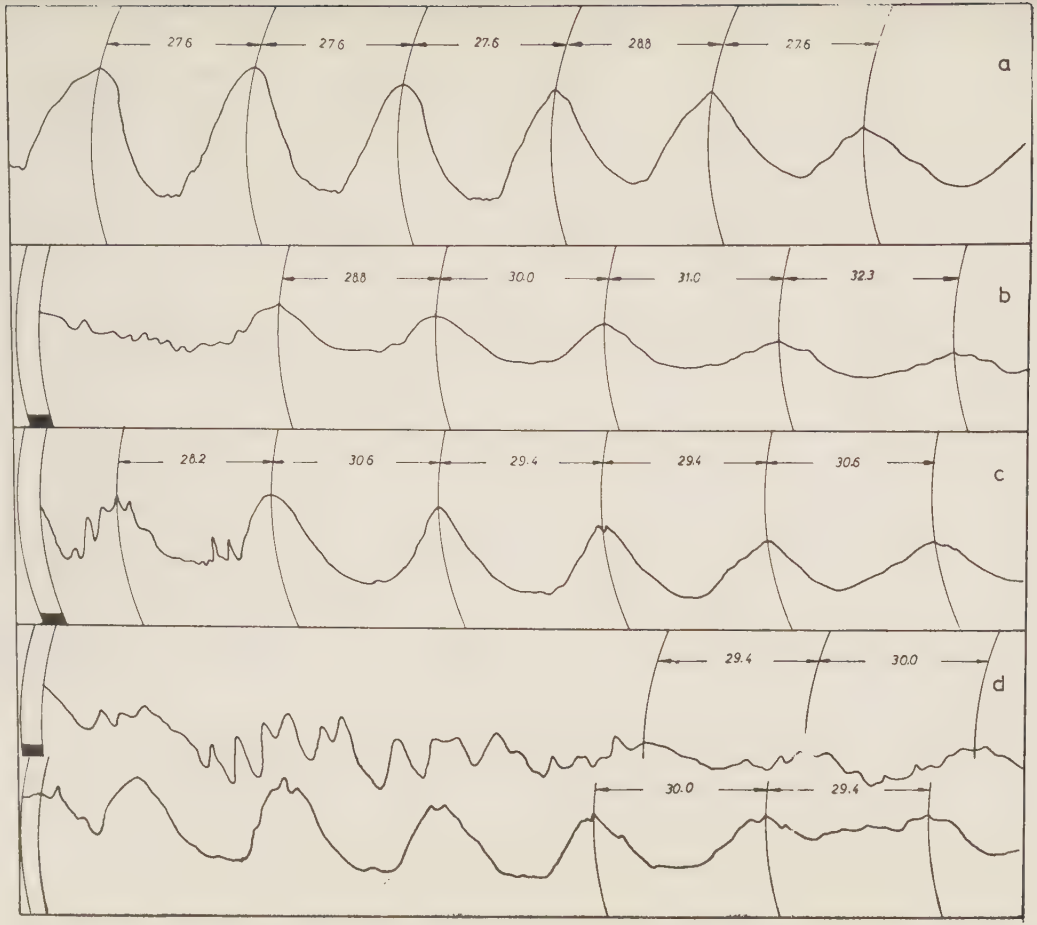

27.6
27.6
27.6
28.8
27.6
a
28.8
30.0
31.0
32.3
b
28.2
30.6
29.4
29.4
30.6
c
29.4
30.0
d
30.0
29.4

Abb. 11: Länge der Perioden von Phaseolus, wenn zu 6 verschiedenen Tageszeiten (A-N) 4 Std. lang Sauerstoff durch CO_2 verdrängt wird (2.). Zweimal maximale Periodenverlängerung (E und N). Wegen Auslöschung der Amplituden wurden die beiden Anfangsperioden im Dauerlicht zusammengefaßt. Periodenlängen der Kontrollen darüber (1.). ■ Dunkelzeit; □ Lichtzeit. Mittlerer quadratischer Fehler jeder Periode kleiner als ±0.7 Std.
Zur Erklärung der Buchstaben A-N siehe Abb. 1.

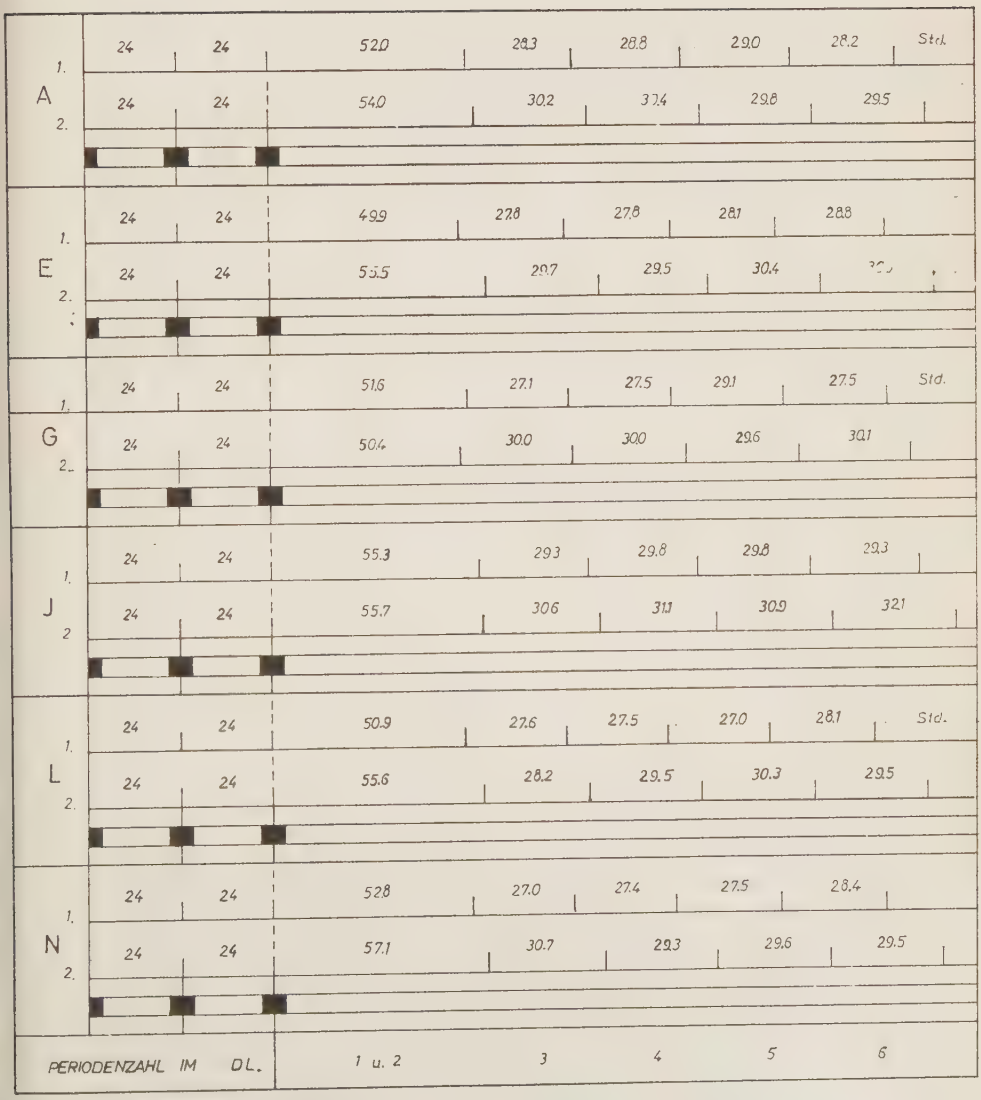
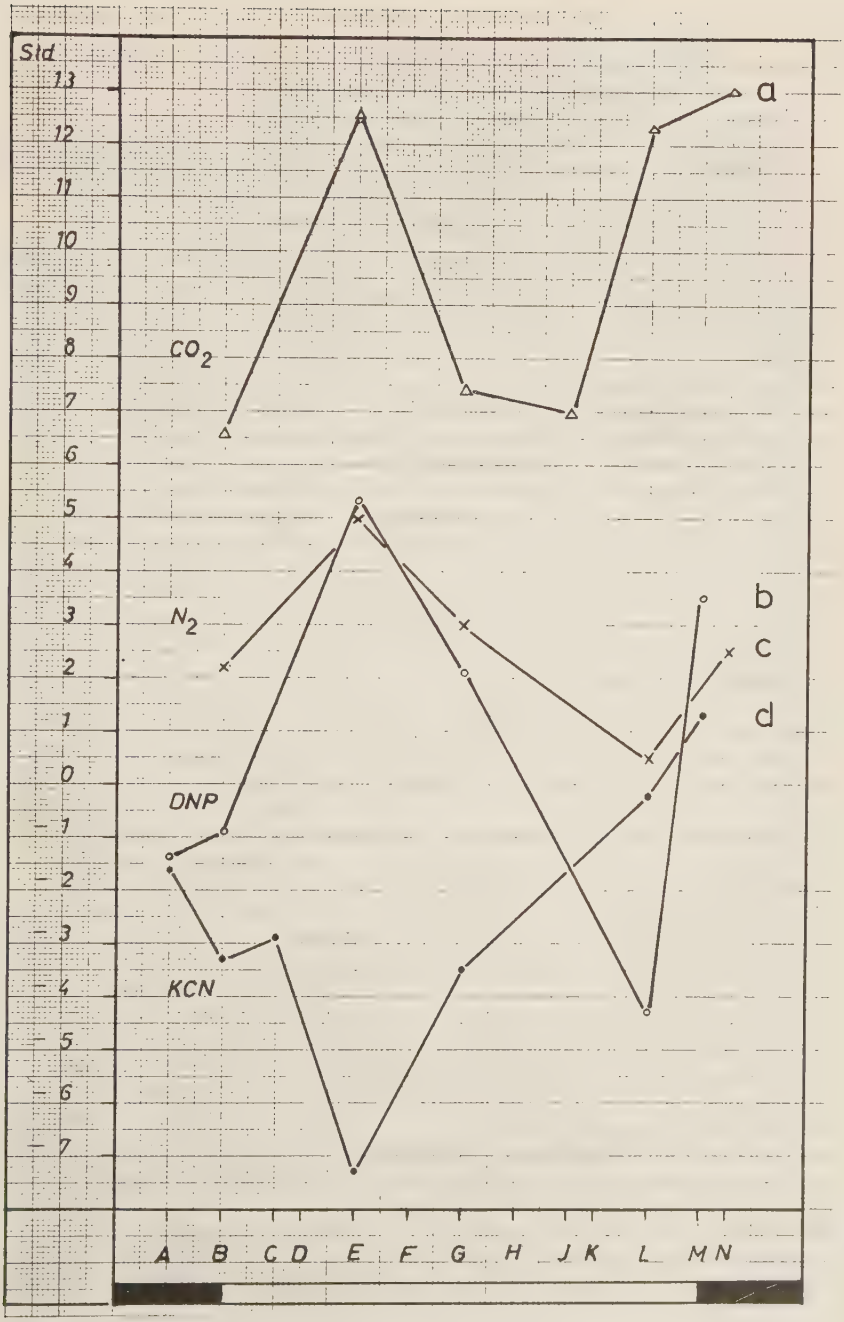

A
1. 24 24 52.0 28.3 28.8 29.0 28.2 Std.
2. 24 24 54.0 30.2 31.4 29.8 29.5
E
1. 24 24 49.9 27.8 27.8 28.1 28.8
2. 24 24 55.5 29.7 29.5 30.4
1. 24 24 51.6 27.1 27.5 29.1 27.5 Std.
G
2. 24 24 50.4 30.0 30.0 29.6 30.1
J
1. 24 24 55.3 29.3 29.8 29.8 29.3
2. 24 24 55.7 30.6 31.1 30.9 32.1
L
1. 24 24 50.9 27.6 27.5 27.0 28.1 Std.
2. 24 24 55.6 28.2 29.5 30.3 29.5
N
1. 24 24 52.8 27.0 27.4 27.5 28.4
2. 24 24 57.1 30.7 29.3 29.6 29.5
PERIODENZAHL IM DL. 1 u. 2 3 4 5 6

Abb. 12: Dargestellt sind die Gesamtphasenverschiebungen für die Einwirkung von CO_2, DNP, N_2 und KCN. Es sind stets die bis zum 6. Senkungsmaximum der Blätter im Dauerlicht aufgetretenen Phasenverschiebungen eingetragen, bei KCN jedoch nur die bis zur 4. Periode.
Ordinate: Phasenverschiebung in Stunden.
Abszisse: Übertragungszeitpunkte in das Dauerlicht.
Erklärung der Buchstaben siehe Abb. 1.
■ Übertragen aus der Dunkelzeit des LDW.
□ Übertragen aus der Lichtzeit des LDW.
Mittlerer quadratischer Fehler unter $\pm$1.8 Std.


Std
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
– 1
– 2
– 3
– 4
– 5
– 6
– 7
CO_2
N_2
DNP
KCN
a
b
c
d
A
B
C
D
E
F
G
H
J
K
L
M
N

L i t e r a t u r

Baltes, J. Der Einfluß verschiedener Substanzen auf die endogen-tagesperiodischen Blattbewegungen. Diss. Tübingen 1964

Bühnemann, F. Das endodiurnale System der Oedogonium-Zelle II: Der Einfluß von Stoffwechselgiften und anderen Wirkstoffen. Biol.Zbl. 74, 691-705, 1955

Bünning, E. Die physiologische Uhr. 2Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963

Bünning, E. Über die Urethanvergiftung der endogenen Tagesrhythmik. Planta 48, 453-458, 1957

Bünning, E. Versuche zur Beeinflussung der endogenen Tagesrhythmik durch chemische Faktoren. Z.f.B. 44, 515-529, 1956

Bünning, E. Zur Kenntnis der endogenen Tagesrhythmik bei Insekten und bei Pflanzen. Ber.dt.bot.Ges. 54, 594-607, 1935

Bünning, E. u. Baltes, J. Zur Wirkung von schwerem Wasser auf die Tagesrhythmik. Naturwissensch. 50, 622, 1963

Bünning, E. u. Baltes, J. Wirkung von Äthylalkohol auf die physiologische Uhr. Naturwissensch. 49, 19, 1962

Bünning, E. u. Tazawa. M. Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik bei Phaseolus. Planta (Berl.) 50, 107-121, 1957

Griffiths, D.E. a. Wharton, D.C. Purification and Properties of Cytochromoxydase. Journ.of Biol.Chem., 1850-56, 1961

Hastings, S.J. Biochemical Aspects of Rhythm. Cold Spring Harbor Symp. 25, 131-143, 1960

Karakashian, M.W. a. Hastings, J.W. The Inhibition of a Biological Clock by Actinomycin D. Proceed.of Nat.Acad.Sciences 48, 2130-37, 1962

Karakashian, M.W. a. Hastings, J.W. The Effects of Inhibitors of Macromolecular Biosynthesis upon the Persistant Rhythm of Luminescence in Gonyaulax. Journ.of gen.Phys. 47, 1-12, 1963

Keller, S. Über die Wirkung chemischer Faktoren auf die Blattbewegungen. Z.f.B. 48, 32-37, 1960

Macdowall, F.D.H. Reversible Effects of Chemical Treatments on the Rhythmic Exudation of Sap by Tobacco Roots Canad.Journ.of Bot., 42, 115-120, 1964

Wagner, R. Der Einfluß niedriger Temperatur auf die Phasenlage der endogen - tagesperiodischen Blattbewegungen von Phaseolus multiflorus. Z.f.B. 51, 179-204, 1963

Wilkins, M.B. a. Warren, D. The Influence of Low Partial Pressures of Oxygen on the Rhythm in the Growth Rate of the Avena Coleoptile. Planta (Berl.) 60, 261-265, 1963

L e b e n s l a u f

Am 5.Januar 1933 wurde ich als ältester Sohn des Pfarrers Dr.Eberhard Kurras und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Rose in Naumburg a.d. Saale geboren. Ich besuchte Schulen in Naumburg, Weimar und Nürnberg und legte als Schüler der Rudolf-Steiner-Schule Nürnberg 1953 das Abitur für Externe am dortigen Realgymnasium ab. Anschließend machte ich eine Mechanikerlehre in den Zündappwerken Nürnberg und arbeitete nach der Gesellenprüfung ein Jahr lang als Werkzeugmacher. Vom WS 1956/57 an studierte ich in Erlangen, Wien und Tübingen die Fächer Botanik, Zoologie, Geographie und Chemie. Meine akademischen Lehrer waren die Professoren Berninger, Blüthgen, Blume, Bobek, Bünning, Ehrendorfer, Höfler, Kühnelt, Leidlmaier, Leinfellner, Mägdefrau, Marinelli, Metzner, Möhres, Schwemmle, Stammer, Wilhelmy, v. Wissmann.

Von Pfingsten 1962 bis Herbst 1964 war ich am Botanischen Institut der Universität Tübingen unter Anleitung von Professor Dr. E. Bünning mit der Ausarbeitung meiner Dissertation: 'Über den Einfluß von tiefer Temperatur, Atmungsgiften und Sauerstoffentzug auf die einzelnen Phasen im Zyklus der endogenen Tagesperiodik von Phaseolus' beschäftigt.

Im Frühjahr 1964 bestand ich in Tübingen das Staatsexamen für das Lehramt an Gymnasien und bin seit September 1964 als Studienreferendar im Vorbereitungsdienst des Landes Baden-Württemberg.

Fotodruck Frau Elly HUTH Tübingen